



## Article Original

# Activité Antifongique de l'Huile Essentielle de *Cymbopogon Citratus* (DC) Stapf (Poaceae) : Cas des Moisissures Isolées des Poissons Fumés et Séchés des Marchés de N'Djaména

*Antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae): case of molds isolated from smoked and dried fish in N'Djamena markets*

Bakarnga-Via Issakou<sup>1</sup>, Lambey Espérance<sup>1</sup>, Gédéon Walbang Ossoga<sup>2</sup>, Abdoullahi Hissein Ousman<sup>1</sup>, Mbaigolmem Béral Valéry<sup>1</sup>, Abdelsalam Tidjani<sup>1</sup>, Menut Chantal<sup>3</sup>.

## RÉSUMÉ

**Introduction.** Les infections causées par les moisissures (aspergilloses, aflatoxines, mycotoxiques...) constituent un véritable problème de santé publique. Pour surmonter ces difficultés cette étude a été menée dans le but d'isoler les moisissures à partir des poissons fumés et séchés et d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. **Méthodes.** L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a été extraite par hydrodistillation et l'analyse de la composition chimique s'est faite par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Des souches des moisissures ont été isolées à partir des poissons fumés et séchés et l'activité antifongique a été évaluée par la méthode d'incorporation à la gélose. **Résultats.** L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* extraite a donné un rendement de 0,35% et riche en composés monoterpéniques oxygénés présents à 87,08% et avec comme composés majoritaires le géraniol (23,15%), le néral (31,36%) et le géraniol (43,15%). Des poissons fumés et séchés ont été isolées quatre souches de moisissures : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium digitatum* et *Aspergillus niger*. L'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* a inhibé la croissance d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* à une concentration minimale inhibitrice de 0,50 mg/ml, *Penicillium digitatum* à 0,75 mg/ml et *Aspergillus niger* à 0,25 mg/ml. **Conclusion.** L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* serait une source potentielle en métabolite secondaire à activité antifongique.

## ABSTRACT

**Introduction.** Infections caused by molds (aspergillosis, aflatoxins, mycotoxicosis...) constitute a real public health problem. To overcome these difficulties, this study was conducted with the aim of isolating molds from smoked and dried fish and evaluating the antifungal activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus*. **Methods.** The essential oil of *Cymbopogon citratus* was extracted by hydrodistillation and the analysis of the chemical composition was done by gas chromatography and gas chromatography coupled to mass spectrometry. Mold strains were isolated from smoked and dried fish and antifungal activity was assessed by the agar incorporation method. **Results.** The essential oil of *Cymbopogon citratus* extracted gave a yield of 0.35% and was rich in oxygenated monoterpene compounds present at 87.08% and with the majority compounds being geraniol (23.15%), neral (31.36%) and the geraniol (43.15%). Smoked and dried fish were isolated from four strains of mould: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium digitatum* and *Aspergillus niger*. *Cymbopogon citratus* leaf essential oil inhibited the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* at a minimum inhibitory concentration of 0.50 mg/ml, *Penicillium digitatum* at 0.75 mg/ml and *Aspergillus niger* at 0.25 mg/ml. **Conclusion.** The essential oil of *Cymbopogon citratus* would be a potential source of secondary metabolite with antifungal activity.

1. Université de N'Djaména, Faculté des Sciences de la Santé Humaine, Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, B.P. 1027, N'Djaména/Tchad.
2. Ecole Normale Supérieure de Bongor, Laboratoire d'analyse médicale de l'Hôpital provincial de Bongor, BP 03, Bongor, Tchad.
3. IBMM, UMR 5247, Equipe Glyco et nanovecteurs pour le ciblage thérapeutique, Université de Montpellier 1, Faculté de Pharmacie, 15 Avenue Charles Flahault, BP 14491, 34093 Montpellier, France.

**Auteur correspondant :** Gédéon Walbang OSSOGA, Ecole Normale Supérieure de Bongor, Laboratoire d'analyse médicale de l'Hôpital provincial de Bongor, BP 03, Bongor, Tchad. Téléphones : (+235) 63 12 53 62 / 90 42 43 23. E-mail: [ossogagedeon@gmail.com](mailto:ossogagedeon@gmail.com)

**Mots clés :** *Cymbopogon citratus*, huile essentielle, activité antifongique, Tchad.

**Key words:** *Cymbopogon citratus*, essential oil, antifungal activity, Chad.

## INTRODUCTION

D'après le rapport publié conjointement par FAO, FIDA, OMS, PAM et UNICEF, le nombre de personnes touchées par la faim dans le monde a augmenté pour atteindre jusqu'à 828 millions en 2021, soit une hausse d'environ 46 millions par rapport à 2020. La plupart de ces personnes se trouvent en Afrique subsaharienne avec plus de 236 millions de personnes sous-alimentées. Le problème alimentaire est à cet effet le plus urgent, le plus permanent et le plus contraignant que toutes les sociétés et plus particulièrement les pays pauvres doivent résoudre [1, 2]. En effet, les poissons fumés et séchés sont souvent contaminés par les produits chimiques (métaux lourds, pesticides et hydrocarbures aliphatiques) et micro-organismes pathogènes (bactéries, virus) et plus particulièrement les champignons. Ces champignons produisent des aflatoxines induisant les cancers, l'hépatotoxicité, la neurotoxicité, l'immunotoxicité et la néphrotoxicité, constituant ainsi un véritable problème de santé publique [3].

Les poissons séchés et fumés constituent une denrée très consommée au Tchad et dans les pays sahéliens. Ce sont des aliments hautement périssables qui peuvent se modifier immédiatement après leur capture lorsque les conditions de conservations sont inadéquates les rendant impropres à la consommation et dangereux pour la santé de l'homme [4].

Les agents fongiques responsables de la production des aflatoxines dans les poissons fumés et séchés sont des champignons microscopiques tels que : *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia spp*, *Scycadium dimidiatum*. Ces poissons fumés et séchés contaminés par les aflatoxines d'origine fongique, constituent un véritable problème de santé publique pour les consommateurs [4, 5]. Les plantes médicinales sont donc des sources potentielles de substances bioactives, pouvant être caractérisées, puis utilisées par la population comme base pour la mise au point d'une nouvelle génération d'agents antifongiques naturels, dirigés contre ces mycètes rebelles aux antifongiques classiques [5, 6]. Le Tchad regorge d'une biodiversité floristique comprenant les plantes de la famille des *Poacea* dont *Cymbopogon citratus* utilisées pour traiter plusieurs maladies dont les infections fongiques, leurs symptômes et les diverses manifestations [7, 8]. Ainsi, les plantes du genre *Cymbopogon* qui sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses affections microbiennes et métaboliques constituent des sources potentielles de substances biologiquement actives [7].

L'infection des aliments reste une situation préoccupante au Tchad. C'est dans cette logique que s'intègre ce travail de recherche dont le but est de rechercher une thérapie alternative pour le contrôle des infestions fongiques et contribuer à la valorisation des plantes médicinales du Tchad.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel végétal et procédure d'extraction de l'huile essentielle

Les feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus*, ont été récoltées le 26 décembre 2020 au quartier Ambatta situé

dans le 7<sup>e</sup> arrondissement de la ville de N'Djamena (Tchad) et l'identification de l'espèce a été faite à l'herbier de l'Institut de Recherche en Elevage pour le Développement (IREDD) conformément au spécimen sous le numéro : 4532/HIRED/Tchad.

L'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* a été extraite à l'aide d'un appareillage de type Clevenger. Les feuilles ont été hydrodistillées pendant 5 h. L'huile recueillie a été séchée sur une colonne de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), pesée dans un flacon taré puis conservée à environ 4°C à l'abri de la lumière. Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'huile essentielle}}{\text{Masse du matériel végétal}} \times 100$$

### Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse des feuilles de *Cymbopogon Citratus* a été faite par chromatographie en phase gazeuse (CPG), puis par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) [9].

### Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur les champignons filamenteux

#### Matériel fongique

Il a été constitué des moisissures (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium digitatum*) isolés à partir des poissons fumés et séchés dans les marchés de N'Djamena.

#### Isolement des Moisissures

Douze (12) échantillons de poissons fumés et séchés ont été collectés du 10 au 15 Septembre 2020, de façon aléatoire auprès de différents vendeurs dans trois (03) marchés (Taradona, Central et de Walia) de N'Djaména. Ces échantillons ont été prélevés dans les conditions aseptiques, puis transportés au laboratoire et conservés à 4°C. Au laboratoire, les parties superficielles et profondes des poissons ont été prélevées de manière aseptique sous une hotte à flux laminaire [4].

#### Dilution et ensemencement

Des séries de dilutions décimales ont été réalisées pour chaque échantillon selon la norme NF ISO 6887-1 relative à la suspension mère et dilutions décimales. Les géloses de SABOURAUD au chloramphénicol-2 ont été ensemencées et incubées à 30 °C pendant 72 heures à 7 jours pour la recherche des moisissures. Des colonies caractéristiques des moisissures ont été isolées et conservées pour une éventuelle identification [4].

#### Purification

Les colonies précédemment isolées ont été repiquées successivement jusqu'à l'obtention d'un seul fragment de champignon [10, 11]. Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri soigneusement étiquetée. Les souches pures obtenues ont ensuite été

conservées sur le milieu Czapek Yeast Extrat Agar incliné dans des cryotubes à +4 °C [12].

### Identification

L'identification a été faite suivant les critères morphologiques et culturels des différentes souches et fragments (spore et mycélien) et observés au microscope aux grossissements 10X et 40X. Les caractéristiques culturelles des souches fongiques isolées ont permis d'identifier certaines souches fongiques par l'utilisation des clés spécifiques de détermination [12]. Cette méthode a permis d'isoler quatre (4) souches fongiques dont *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium digitatum* dans les poissons séchés et fumés collectés des trois (03) marchés de N'Djamena.

### Activité antifongique d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Après la préparation des solutions d'huile essentielle et d'antibiotique de référence, l'activité antifongique a été déterminée par la méthode d'incorporation à la gélose telle que décrite par [13].

#### Incorporation à la gélose

Le milieu Sabouraud au chloramphenicol-2 a été dilué par la solution huile essentielle/éthanol préalablement préparée. Les milieux sont coulés dans les boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 20 ml/boîte et laisser sous la hotte jusqu'à la solidification de la gélose.

#### Ensemencement du champignon

Un disque mycélien de 6 mm de diamètre est prélevé sur le front de croissance d'une culture vieille de 3 à 4 jours

et placé au centre des boîtes de Pétri préparées précédemment. Incubée à 37°C, la croissance mycélienne a été suivie en mesurant chaque jour à la même heure deux diamètres perpendiculaires tracés au revers des boîtes de Pétri au niveau des explants pendant 7 jours en effectuant la moyenne de ces 2 diamètres diminuée de celui de l'explant [14]. L'activité antifongique des extraits a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition suivant la formule :

$$\%I = \frac{Dt - Dx}{Dt} \times 100$$

%I : pourcentage d'inhibition, Dt : diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte témoin et Dx : diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte test.

### Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentration Minimale Fongique (CMF)

Après 7 jours d'incubation, en présence de l'huile essentielle les CMI et CMF ont été mesurés pour les explants qui n'ont pas poussés. La fongicidie a été déterminée par le rapport CMF/CMI.

#### Analyses statistiques

Les résultats ont été statistiquement analysés par ANOVA utilisant le test de Fisher par LSD au seuil de probabilité 5% ( $p < 0,05$ ) grâce au logiciel STAGRAPHS plus 5.0 pour Windows.

## RÉSULTATS

### Extraction et Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Le rendement d'extraction en huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* obtenu par hydrodistillation est de 0,35 %.

#### Analyse de composition chimique de l'huile essentielle de *C. citratus*

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Cymbopogon citratus* est constituée de 33 composés est riche en Monoterpènes hydrocarbonés (11,23 %) et Monoterpènes oxygénés (87,08 %) par rapport aux Sesquiterpènes hydrocarbonés qui ne représentent que (0,38%) associés aux composés linéaires (0,79%) et les composés phénoliques (0,07%). Le gèranial (43,35 %), le néral (32,12 %) et le myrcène (10,61%) sont les composés majoritaires. Les détails sont consignés dans le tableau I.

#### Isolement des souches sur les poissons fumés et séchés

Les cultures des prélèvements sur milieu Sabouraud au chloramphenicol-2 ont permis l'isolement de quatre souches fongiques différentes des poissons séchés et fumés. Il s'agit de : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium digitatum*.

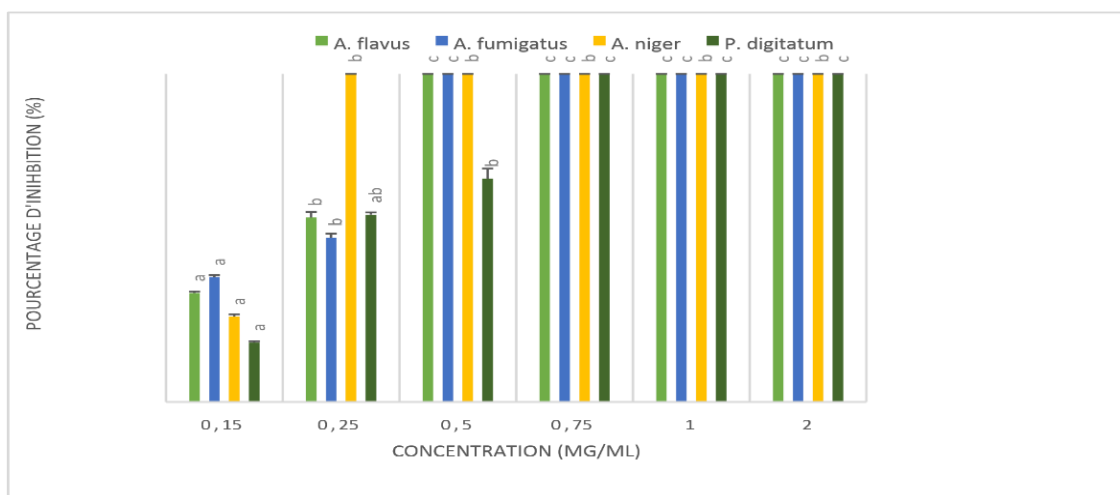
#### Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

L'activité antifongique de l'huile essentielle de feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus* sur les souches fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium digitatum*) sont représentées par la figure 1 et, la figure 2 représente l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus niger* à différentes concentrations en huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.

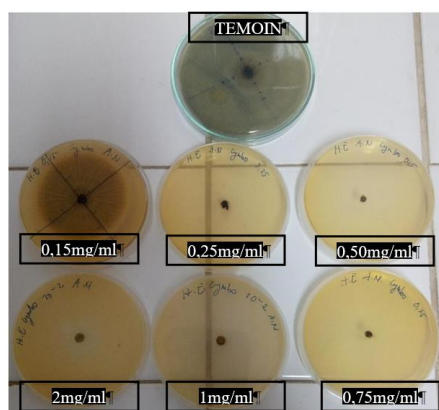
**Tableau I :** Analyse de composition chimique de l'huile essentielle de *C. citratus*

IK	Composés	<i>Cymbopogon Citratus</i> (%)	Méthodes d'identification
<b>Monoterpènes</b>		<b>98,31</b>	
<b>Monoterpènes hydrocarbonés</b>			
995	myrcène	10,61	IRL.GCMS
1039	(z)-β-ocimène	0,26	IRL.GCMS
1050	(e)-β-ocimène	0,16	IRL.GCMS
1095	terpinolène	0,14	IRL.GCMS
1159	oxyde de β-pinène	0,06	IRL.GCMS
<b>Monoterpènes oxygénés</b>			
1102	linalool	0,80	IRL.GCMS
1112	iso-néral	0,08	IRL.GCMS
1143	oxyde de (z)-limonène	0,06	IRL.GCMS
1148	(z)-verbénol	0,34	IRL.GCMS
1156	citronellal	0,38	IRL.GCMS
1168	(z)- isocitral	1,25	IRL.GCMS
1186	(e)- isocitral	1,84	IRL.GCMS
1200	γ -terpinéol	0,23	IRL.GCMS
1234	citronellol	0,58	IRL.GCMS
1254	néral	32,12	IRL.GCMS
1259	géraniol	1,69	IRL.GCMS
1263	cis – oxyde de carvone	2,63	IRL.GCMS
1285	géraniol	43,35	IRL.GCMS
1290	formiate de néryle	0,14	IRL.GCMS
1297	formate de géranyle	0,06	IRL.GCMS
1324	méthyl de géranyle	0,09	IRL.GCMS
1358	eugénol	0,25	IRL.GCMS
1380	acétate de néryle	0,14	IRL.GCMS
1386	acétate de géranyle	1,05	IRL.GCMS
<b>Sesquiterpènes</b>			
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>			
1436	α-(e)-bergamotène	0,13	IRL.GCMS
1446	α-humulène	0,07	IRL.GCMS
1497	γ- muurolène	0,12	IRL.GCMS
1771	14 – oxy – α-muurolène	0,06	IRL.GCMS
<b>Sesquiterpènes oxygénés</b>			
1344	2- undécaneone	0,12	IRL.GCMS
1602	β- trans-eulemone	0,06	IRL.GCMS
1637	epi –α- muurolol	0,1	IRL.GCMS
<b>Composés linéaires</b>			
988	6-methyl-5-heptene-2 one	0,79	IRL.GCMS
<b>Composés phénoliques</b>			
2108	7- isoprenyloxy coumarine	0,07	IRL.GCMS
<b>Total</b>		<b>99,83</b>	

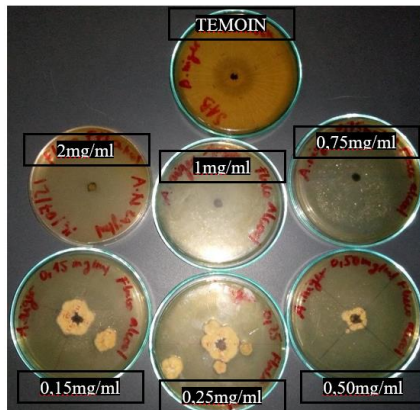
**IRL= indice de rétention linéaire ; GCMS= couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse.**



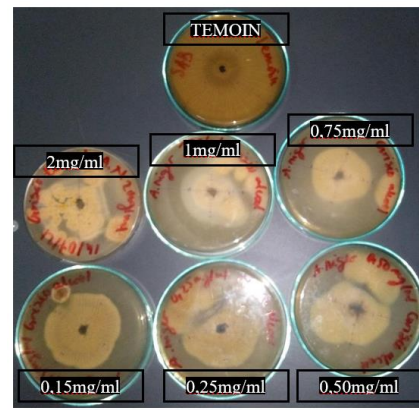
**Figure 1: Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.**



**Figure 2 :** Inhibition de la croissance d'*Aspergillus niger* à différentes concentrations en huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.



**Figure 3 :** Inhibition d'*Aspergillus niger* par Fluconazole



**Figure 4 :** inhibition d'*Aspergillus niger* par Griséofulvine

La figure 1 présente l'essence de *Cymbopogon citratus* qui inhibe la croissance d'*Aspergillus niger* tout comme celle de *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, et *Aspergillus fumigatus* dans les mêmes conditions. En effet l'inhibition augmente en fonction de la concentration en huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.

L'analyse statistique de l'inhibition de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* n'a pas révélé une différence significative sur les souches *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, et *Aspergillus fumigatus* par rapport à *Aspergillus niger*.

Il ressort de ces figures que le pourcentage d'inhibition de l'axe des espèces sur *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum* augmente en fonction de la concentration en huile essentielle de *Cymbopogon citratus* dans les milieux de culture. La sensibilité est variable selon les souches et atteint 100% d'inhibition à la concentration de 0,50 mg/ml en huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur les souches *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*, 0,75 mg/ml pour *Penicillium digitatum* et 0,25 mg/ml pour *Aspergillus niger* correspondant aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Paramètres de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.

<b>Souches</b> <i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium digitatum</i>
CMI (mg/ml)	0,50±0,00	0,50±0,00	0,250±0,00	0,750±0,00
Cl <sub>50</sub> (mg/ml)	0,2629±0,00	0,2782±0,00	0,1436±0,00	0,02697±0,00

**CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; Cl : Chlorure.**

La subculture d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum* n'ayant présentée aucune croissance a permis de déterminer la concentration minimale fongicide et le rapport CMF/CMI est consigné dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Tableau récapitulatif des CMI, CMF et CMF/CMI

<b>Paramètres</b>	Huile essentielle de <i>cymbopogon citratus</i>		
	<b>CMF (mg/ml)</b>	<b>CMI (mg/ml)</b>	<b>CMF/CMI</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	1	0,50	1,33
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	0,50	1,33
<i>Aspergillus niger</i>	0,5	0,25	2
<i>Penicillium digitatum</i>	1	0,75	1,33

**CMF : Concentration Minimale Fongicide ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.**

Les rapports CMF/CMI < 4 montrent que notre essence est fongicide sur *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum*.

### Activité antifongique des deux molécules de références (Fluconazole et Griséofulvine)

Les molécules de références ont été testées sur les quatre souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium digitatum*).

Les figures 3 et 4 montrent l'inhibition d'*Aspergillus niger* par Fluconazole et Griséofulvine respectivement.

Des figures 3 et 4, il en ressort que l'inhibition est complète (100%) à partir de la concentration 0,75mg/ml pour Fluconazole. Nous pouvons alors en déduire que la concentration minimale inhibitrice (CMI) de Fluconazole sur *Aspergillus niger* est 0,75mg/ml. Pour Griséofulvine, il n'y a pas d'inhibition. La souche mycélienne pousse sur toutes les boîtes. Il s'avère alors que Griséofulvine n'a pas d'effet sur *Aspergillus niger*.

Ainsi, de ces deux molécules, *Aspergillus niger* est inhibé par Fluconazole tandis qu'il présente un phénomène de résistance vis-à-vis de Griséofulvine. A la différence de la CMI de Fluconazole (0,75mg/ml), celle de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* est de 0,25mg/ml. Nous en déduisons que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* est plus active que Fluconazole à l'issue de cet essai.

### DISCUSSION

Le rendement d'extraction en huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* obtenu par hydrodistillation est de 0,35 %. Ce résultat est similaire à celui obtenu en Zambie [15] avec un rendement de 0,3% des feuilles sèches de *Cymbopogon citratus* récoltées ainsi qu'à celui obtenu en Inde [16] qui a un rendement de 0,4% des feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus*, par la même méthode d'extraction (hydrodistillation).

Au regard des résultats du tableau I, Il ressort que la composition chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* constituée de 33 composés est riche en Monoterpènes hydrocarbonés (11,23%) et Monoterpènes oxygénés (87,08%) par rapport aux Sesquiterpènes hydrocarbonés qui ne représentent que (0,38%). Une étude similaire faite au Congo-Brazzaville [17] avec 5,63 % des Monoterpènes hydrocarbonés, 90,24% des Monoterpènes oxygénés et 0,07% des Sesquiterpènes hydrocarbonés. Nos résultats ont été plus importants que les leurs sauf pour les Monoterpènes oxygénés.

Concernant les composés linéaires (0,79%), phénoliques (0,07%), le géraniol (43,35 %), le néral (32,12 %) et le myrcène (10,61%) sont des composés majoritaires. Ces résultats sont semblables aux travaux réalisés au Burkina Faso [18] qui ont obtenu le géraniol (48,1%), néral (34,6%) et le myrcène (11,0%) comme les composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* récoltées. De même, les études menées par l'équipe de Gbenou (2013) [19] ont révélé que l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon citratus* est majoritairement constituée de géraniol (27,04%), néral (19,93%) et le myrcène (27,04%). Ces différents composés révélés dans cette essence *Cymbopogon citratus* constituent des biomolécules potentiellement antimicrobiennes.

Pour l'activité antifongique, les poissons fumés et séchés prélevés des trois marchés de N'Djaména sont contaminés par les mêmes souches fongiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium digitatum* et *Aspergillus fumigatus*). Ces souches ont été comparées à celles des souches de références [20]. L'isolement à partir des poissons séchés et fumés provenant des trois (03) marchés de N'Djaména a permis d'obtenir quatre (04) souches fongiques appartenant à deux (02) genres : *Aspergillus* et *Penicillium*. Ces genres fongiques sont présents dans la majorité des aliments secs mal conservés ou insuffisamment séchés. Selon Riba (2005) [21], la prédominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des poissons séchés a été rapportée dans plusieurs travaux. De même les études similaires menées en Algérie [22], au Burkina Faso [23] et au Tchad [24] avaient révélé la présence des souches fongiques appartenant aux genres *Curvularia*, *Aspergillus* et *Mucor* dans les aliments secs. Nimade (2018) [25] avec son équipe, ont isolé quatre espèces d'*Aspergillus* à savoir *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus tubingenis* de poissons séchés. OSIBONA (2018) [26] ont, eux aussi trouvé *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. wentii* et *Penicillium* dans les poissons séchés. Abdoullahi (2018) [4] avait aussi isolé des souches similaires à partir du poisson fumés et séchés. Nos résultats sont similaires à ceux de Sa'adatu (2019) [27], au Nigeria qui a isolé dans les poissons fumés les moisissures, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*.

L'activité antifongique ainsi illustrée sur les champignons (moisissures) dans cette étude serait liée aux Monoterpènes oxygénés présents à 87,08%. En effet, une étude menée par Koba (2004) [28] a montré que les huiles essentielles de trois *Cymbopogon sp* riches en géraniol (43,15%) géraniol (23,15%) et néral (31,36%) qui sont des Monoterpènes oxygénés, inhibent la croissance de *C. albicans*, *C. neoformans* et *A. fumigatus* avec des CMI de 100 et 200 µl/ml respectivement. De même, Paranagama (2003) [29] a montré que l'huile essentielle de *C. citratus* a une activité fongicide sur *A. flavus*. Les études menées par Mahanta (2007) [16] a montré que l'huile essentielle de *C. citratus* inhibe les souches fongiques suivantes : *T. harzianum*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. alternata*, *P. citrinum* et *C. lunata*. Notre travail de recherche présente certaines limites. Il nous manque dans notre laboratoire à N'Djaména au Tchad, certains appareils tels que la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et la Spectrométrie de Masse (SM). A cet effet, la CPG couplée à la SM devrait nous permettre d'atteindre l'analyse de la composition sur les espèces de la famille des Poaceae. Nous signalons également le manque de matériels pour monter la colonne chromatographique aux fins d'incriminer la molécule responsable de l'inhibition de la croissance de ces moisissures car l'effet observé est de type synergique.

### CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* riche en Monoterpènes hydrocarbonés et Monoterpènes oxygénés

a inhibé la croissance de quatre souches fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium digitatum*) isolés des poissons fumés et séchés vendus sur les marchés de N'Djamena. Cette essence de *Cymbopogon citratus* pourrait être une source plausible pour le développement des molécules antifongiques.

### CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

- ✓ BAKARNGA-VIA Issakou, Abdelsalam Tidjani, ont encadré, orienté et suivi la recherche, en suite corrigé et validé les travaux;
- ✓ LAMBEY Espérance a récolté la plante sur le terrain et le traitement de l'échantillon puis l'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae) ;
- ✓ Abdoullahi Hissain Ousman, Mbaigolmem Béral Valéry, ont servi de guides pour la mise en œuvre de la méthode d'incorporation à la gélose pour l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur les moisissures isolées des poissons fumés et séchés au Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie de la Faculté des Sciences de la Santé Humaine de l'Université de N'Djamena (Tchad)
- ✓ Gédéon Walbang OSSOGA a participé à la lecture et à la rédaction de l'article.
- ✓ MENUT Chantal a fait l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon Citratus* par chromatographie en phase gazeuse (CPG), puis par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) au Laboratoire de Biochimie Clinique et Métabolique de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron de l'Université de Montpellier I (France).

### REMERCIEMENTS

Nous remercions la Faculté des Sciences de la Santé Humaine de l'Université de N'Djaména et la Faculté de Pharmacie de Université de Montpellier 1 pour avoir mis à notre disposition leurs Laboratoires de Pharmacologie et Toxicologie et aussi financés ces travaux de recherche.

### CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

### RÉFÉRENCES

1. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. 2022. *The State of Food Security and Nutrition in the World 2022. Repurposing food and agricultural policies to make healthy diets more affordable*. Rome, FAO. Consulté, le 09 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://www.fao.org/documents/card/fr/c/CC0639FR>
2. Béranger Raoul TAMGNO. Protection des stocks de poissons secs en Afrique sub-saharienne. 2021. Consulté, le 09 octobre 2022 et disponible sur le site : [https://www.agrimaroc.org/index.php/Actes\\_IAPH2/article/view/994/1545](https://www.agrimaroc.org/index.php/Actes_IAPH2/article/view/994/1545)
3. Gauthier Alban, 2016. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. *Diplôme d'Etat de Docteur en pharmacie*, Université de Bordeaux, France 105p. Consulté, le 09 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01315198/document>

4. Abdoullahi HO, Tapsoba F, Guira F, Zongo C, Abakar LI, Tidjani A et Savadogo A. Technologies, qualité et importance du poisson séché en Afrique. *Rev. Scie. Technol. Synthèse*. 2018 ; 37 : 49-63.
5. Napolitano DR, Mineo JR, De Souza MA, De Paula JE, Espindola LS, Espindola FS. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the *braziliancerrado*. *Journal of ethnopharmacology*. 2005 ; 99 : 37-41.
6. Bigo C. 2011. La phytothérapie utilisée dans l'éréthisme cardiaque. *Thèse de doctorat en pharmacie*, Université de Lille 2, France 129 p. Consulté, le 06 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://www.sudoc.fr/157223337>
7. Adjanohoun JÉ, Aboubakar N, Dramane K, Ebot ME, Ekpere JA, Enoworock EG et al. *Traditional Medicine and Pharmacopoeia: Contribution to Ethnobotanical and Floristic Studies in Cameroon*. Organisation of African Unity; Scientific Technical and Research Comity, Addis Ababa. 1996; 194-201.
8. Filleul Elisa, 2019. Les *asteraceae* : description botanique, biologique et étude des plantes médicinales et toxiques. *Thèse de doctorat d'état en pharmacie*, Université de Limoges, France 136p. consulté, le 06 octobre 2022 et disponible sur le site : <http://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-107933>
9. Adams RP. *Identification of essential oils by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured publishing corporation carol Stream. 2007 ; 4 : 804.
10. Giraud JP, 2012. Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris 696p.
11. Mehravar M & Sardari S. Screening of antimicrobial membrane-active metabolites of soil microfungi by using chromatic hospholipid polydiacetylene vesicles. *Journal of medicalmycology*. 2011; 21 (3): 188-197.
12. Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy P, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y And Veau P, 1990. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson, Paris 426p.
13. De Billerbeck VG, 2000. Activité fongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur *Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques, Institut national polytechnique de Toulouse, France 236p. Consulté, le 03 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://www.theses.fr/2000INPT009C>
14. Lorougnon F, Heroin P, Therizol M, Kanga JM, Djeha D, Toboue P et Aka BD. Efficacité clinique de la naftifine dans le traitement des dermatomycoses. *Médecine d'Afrique Noire*. 1991 ; 38(10) : 709 - 714.
15. Esmort H. Chisowa, David R. Hall and Dudley I. Farman. Volatile Constituents of the Essential Oil of *Cymbopogon citratus* Stapf grown in Zambia. *FlavourFragr. J.* 1996; 13: 29-30.
16. Mahanta JJ, Chutia M, Bordoloi M, Pathak MG, Adhikary RK and Sarma TC. *Cymbopogon citratus* L. essential oil as a potential antifungal agent against key weed moulds of *Pleurotus* spp. *Spawns. FlavourFragr. J.* 2007; 22: 525–530.
17. Belline Ndzeli Likibi, Gouollaly Tsiba, Aimé Bertrand Madiélé Mabika, Arnaud Wilfrid Etou Ossibi, Samuel Nsikabaka, Jean-Maurille Ouamba. Composés carbonyles majeurs et indices physico-chimiques des huiles essentielles de deux espèces du genre *Cymbopogon* (Poaceae) du Congo-Brazzaville. *International Journal of Engineering and Applied Sciences (IJEAS)*. 2019, 6(10): 2394-3661.

18. Bassolé Imael HN, Lamien-Méda A, Bayala B et Obama HL-C. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon giganteus* seules et en association. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*. 2011 ; 18 (12) : 1070-1074.
19. Gbenou JD, Ahounou JF et Kotchoni SO. Composition phytochimique des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et d'*Eucalyptus citiodora* et leurs propriétés anti-inflammatoires et antalgiques sur les rats Wistar. *Molecularbiology reports*. 2013 ; 40(2) : 1127-1134.
20. Ni Made AS, Dewa NS, Ida Bagus WG, Gusti NAS, Khamdan K. Identification of Contaminant Fungi on Pedetan, and Dry Fish Product of Lemuru (*Sardinella lemuru*), *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 2018; 8(6): 2224-320.
21. Riba A, Sabaou N, Mathieu N et Lebrihi A, 2005. Premières investigations sur les champignons producteurs d'ochratoxine a dans la filière céréale en Algérie. Symposium euro-maghrébin sur les contaminants biologiques chimiques et la sécurité alimentaire, fès. 57p. Consulté, le 03 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://www.ummo.dz/dspace/handle/ummo/1595>
22. Mahideb N, 2015. Étude des moisissures potentiellement productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non traités). Mémoire de Master, université des frères Mentouriconstantine, Algérie, 107p. Consulté, le 08 octobre 2022 et disponible sur le site : <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2015/89-2015.pdf>
23. Tidjani A, Agassounon D, Tchibozo M, Ouattara SP, Toukourou F and De Souza, C. Dosage des aflatoxines dans les « kilichi » et leurs ingrédients commercialisés au Tchad, *microbiol. Hyg. Alim*. 2008; 20 : 27-34.
24. Compaoré H, Sawadogo-Lingani H, Savadogo A, Dianou D and Traoré AS. Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso, *international journal of biological and chemical sciences*. 2016; 10 (1) : 198-210.
25. Ni Made ASS, Dewa NS, Ida Bagus WG, IGusti NASW, Khamdan K. Identification of Contaminant Fungi on Pedetan, and Dry Fish Product of Lemuru (*Sardinella lemuru*), *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2018; 8(6): 2224-3208.
26. Osibona AO, Ogunyebi OO, Samuel TO. Storage fungi and mycotoxins associated with stored smoked catfish (*Clariasgariepinus*), *j. Appl. Sci. Envir. Manage*. 2018; 22(5): 643-646.
27. Sa'adatu AJ, Nura S and Muhammad A. Assessment of mycological quality of smoked african catfish (*Clariasgariepinus*) sold at sabon-gari market, kano nigeria, *annals of microbiology and infectious diseases*. 2019; 1(2): 13-18.
28. Koba K, Sanda K, Raynaud C, Nenonene YA, Millet J et Chaumont JP. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. africains vis-à-vis des germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annual of Medical Veterinary*. 2004 ; 148: 202-206.
29. Paranagama PA, Abeysekéra KHT, Abeywickrama K et Nugaliyadde L. Effets fongicides et anti-aflatoxigènes de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (citronnelle) contre *Aspergillus flavus* Lien. Isolé du riz stocké. *Letters in Applied Microbiology*. 2003 ; 37: 86-90.